

学校编码: 10384
学号: 24520071152550

分类号_____密级_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

血管生成素-1 修复内皮祖细胞
炎症损伤的研究

The study of angiopoietin-1 in repair inflammatory injury of
Endothelial progenitor cells

宋 晶 金

指导教师姓名: 王挹青 教授

专 业 名 称: 内科学

论文提交日期: 2010 年 5 月

论文答辩时间:

2010 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

摘要

目的：体外研究携带血管生成素-1 (angiopoietin-1, Ang-1) 基因的慢病毒载体感染内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)的方法。检测 Ang-1 修饰的 EPCs 诱导炎症后细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子 1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)的表达水平, 评价 Ang-1 对炎症损伤后 EPCs 的修复作用。

方法：体外分离、培养及鉴定大鼠骨髓来源的 EPCs。慢病毒三质粒系统共转染人肾胚细胞 (293FT), 包装生产表达报告基因绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 及目的基因 Ang-1 的病毒感染 EPCs。Western blot 检测 EPCs Ang-1 蛋白的表达情况。肿瘤坏死因子 α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α) 诱导未感染病毒 EPCs 组、感染空载体 pNL 病毒组、感染目的基因 Ang-1 病毒组炎症反应, 空白对照组以 PBS 代替 TNF- α 。通过实时定量荧光 PCR 检测各组 ICAM-1、VCAM-1 mRNA 表达水平、细胞酶联免疫吸附(ELISA)检测各组 ICAM-1、VCAM-1 蛋白表达水平。

结果：成功构建携带 Ang-1 基因的慢病毒, 实现 Ang-1 基因在 EPCs 中的表达。与空白对照组比较, 未感染病毒 EPCs 组、感染空载体 pNL 病毒组 ICAM-1、VCAM-1 的表达水平明显上升 ($P < 0.05$); 而 Ang-1 组较未感染病毒 EPCs 组、感染空载体 pNL 病毒组 ICAM-1、VCAM-1 的表达水平显著下调 ($P < 0.05$)。

结论：Ang-1 可减轻 EPCs 炎症损伤, 改善细胞存活环境。

关键词：内皮祖细胞 血管生成素-1 炎症损伤 修复

Abstract

Objectivs: To construct and identify the angiopoient-1 gene-modified endothelial progenitor cells (EPCs) in vitro. Observe the expression of intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1) of EPCs modified with Ang-1 after inducing inflammation, study the effect of Ang-1 against inflammation injury of EPCs.

Methods: Isolate, culture and identify EPCs from rat bone marrow in vitro. The lentiviral virus three plasmid system were cotransfected to 293FT cells and then produced lentiviral particles. The expression of Ang-1 was detected by Western blot. EPCs were divided to 4 groups: control group, EPCs group, pNL vetor group and Ang-1 gene transfection group. Inflammatory response was induced by TNF- α . The mRNA expression of ICAM-1、VCAM-1 were detected by real time PCR, the protein expression of ICAM-1、VCAM-1 were detected by Elisa.

Results: Lentiviral vector carrying Ang-1 gene has been successfully construsted. The Ang-1 was expressed in infected EPCs. Compared with control group, the secretion of ICAM-1、VCAM-1 were increased significantly both in EPCs group and pNL vetor group. Nevertheless, after transfected with Ang-1, the secretion of ICAM-1、VCAM-1 were decreased significantly.

Conclusions: Ang-1 has the effect of repairing inflammatory injury of endothelial progenitor cells.

Key wods: endothelial progenitor cells; Angiopoient-1; inflammatory injury; repair

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	II
第一章 前言.....	1
1 内皮祖细胞(EPCs)概述.....	1
2 基因修饰的 EPCs 在心血管疾病中的应用.....	3
3 讨论与展望.....	5
4 本论文主要研究内容和研究意义.....	6
参考文献.....	7
第二章 血管生成素-1 修复 EPCs 炎症损伤的研究.....	11
1 实验材料.....	11
2 实验方法.....	13
3 实验结果.....	25
4 讨 论.....	33
5 结 论.....	36
参考文献.....	37
缩略语表.....	40
致 谢.....	41

Table of Contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English.....	II
Chapter 1 Introduction.....	1
1 Summary of endothelial progenitor cells (EPCs).....	1
2 Role of gene-modified EPCs in cardiovascular disorders.....	3
3 Discussion and expectation.....	5
4 Primary content of paper.....	6
References.....	7
Chapter 2 The study of angiopoietin-1 in repair inflammatory injury of EPCs.....	11
1 Instruments and reagents.....	11
2 Experimental methods.....	13
3 Results.....	25
4 Discussion.....	33
5 Conclusions.....	36
References.....	37
Abbreviations.....	40
Acknowledgement.....	41

第一章 前言

心血管疾病是严重威胁人类健康的重大疾病,在发病过程中,血管内皮是首先受累的对象。目前研究表明,炎症反应参与多种心血管病发病过程,多种炎性细胞因子、黏附因子相互作用、相互反应并级联放大,引起血管功能受损。因此,快速有效的对抗炎症反应所致心血管系统损伤是防治心血管疾病的有效方法之一。

细胞移植及基因治疗技术是基础医学研究领域的研究热点,目前已取得了许多突破性进展。内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)自其发现后便受到重视,近年来对其来源、特征及对疾病的影响等诸多方面进行了研究。EPCs 移植治疗心血管疾病的研究已取得了一定进展,而基因治疗与 EPCs 移植技术相结合正日益受到关注,并呈现出良好的应用前景。

1 EPCs 概述

1.1 EPCs 的定义、来源及特征 EPCs 是一类具有游走、增殖能力并可分化为内皮细胞的前体细胞,亦称为成血管细胞(angioblast),但缺乏成熟血管内皮细胞表型,也未形成血管^[1]。1997 年,Asahara 等^[2]利用免疫磁珠细胞分选的方法从人外周血中分离出 EPCs 并首次公开报道。1998 年,Shi 等^[3]发现骨髓来源的 EPCs。自此以后的 10 余年间,对 EPCs 生物学性状及其与心血管疾病关系的研究取得了极大进展。

EPCs 曾被认为仅来源于胚胎期的血管及成体骨髓,然而,近来研究表明,EPCs 还存在于脐带血、心脏、血管壁、脂肪组织、骨骼肌及脾脏等多种组织器官中,内源性和外源性因素的刺激可动员骨髓 EPCs 进入外周血,参与缺血组织的血管重建和损伤血管的再内皮化过程^[4,5]。

仅从形态特征上不能识别血管 EPCs,因此细胞表面特异性的分子标志有助于 EPCs 与其他细胞区分。EPCs 表面分子标志复杂多样,包括 CD34、CD133、VEGFR-2、Tie-1、Tie-2 和 VE-钙粘素等。尽管目前仍存在争议,但国内外多以下几个标志对 EPCs 进行鉴别:CD34 是 EPCs 的一个重要分子标志,但不独特。由于 EPCs 和造血干细胞来自同一祖细胞,它们之间有许多共同的表面标记,CD34 是造血干细胞、EPCs 和成熟内皮细胞的共同标志;VEGFR-2(鼠源称 Flk-1,

人源称 KDR) 是血管系统最早出现的细胞标志 (最早表达于鼠胚 7 日龄尿囊形成期)^[6], 利用 VEGFR-2 可把 EPCs 与造血干细胞区分开, 但不能区分 EPCs 和成熟内皮细胞; CD133(又称 AC133)是造血干/祖细胞的表面标志, 是分子量为 120 kD 的糖基化多肽, 含有 5 个跨膜结构域, Perchev 等^[7] 研究发现, CD133 在内皮祖细胞表达, 而成熟内皮细胞无表达, 因此 CD133 可作为区分 EPCs 与成熟内皮细胞的标志。尽管迄今缺乏统一标准, 多数学者将 CD34/CD133/KDR (VEGFR-2 或 Flk-1)阳性的细胞定义为 EPCs。随着细胞的分化, CD133 表达将迅速下降, 进而表达 vWF 等较成熟内皮细胞标记^[8]。研究还发现, EPCs 与单个核细胞有相似的性质, 即可以同时摄取乙酰化低密度脂蛋白 (Ac-LDL)、连接荆豆凝集素-1(UEA-1)。自密度梯度离心及 EPCs 培养基筛选培养条件下得到的 EPCs 培养体系中, 单个核细胞的数量极少, 故也有学者认为二者为鉴定 EPCs 的一种方法^[9, 10]。我们可根据 EPCs 表面的不同标志确定其处于的相应分化阶段。

1.2 EPCs 的分离及培养 目前体外分离 EPCs 的方法有多种, 主要有免疫磁珠分选 CD34⁺细胞法和密度梯度离心法^[11], 前者分离得到的 CD34⁺细胞较纯, 但细胞流失多, 最终获得数量少, 且价格相对昂贵, 操作繁琐; 后者须用特殊配方培养液, 一般用添加了刺激生长因子的 EBM-2 或 M199 培养液进行培养。近来有研究报道使用微孔法分离单个核细胞, 可获得较密度梯度离心法纯度更高的 EPCs。

1.3 EPCs 与血管新生 EPCs 在治疗缺血性疾病中的意义主要有 2 个方面: 参与血管发生(vasculogenesis): 即在胚胎发育中血管形成(neovascularization) 时, 由中胚层来源的血管母细胞(angioblast)原位分化为 EPCs 及内皮细胞, 然后在原位形成原始的毛细血管网, EPCs 参与血管发生不仅局限于胚胎发育早期血管形成阶段, 在出生后 EPCs 也可以诱导血管生成; 更具意义的是, EPCs 具血管新生(angiogenesis)的作用, 即由存在的细胞增殖、迁移使原先存在的血管重塑成较复杂的毛细血管丛。Griese 等^[12, 13] 发现血管内膜损伤后可以动员、募集 EPCs 迁移至损伤部位, 在体内局部微循环环境作用下能发育为适宜局部生长的内皮细胞, 从而修复、恢复受损内皮细胞功能。利用成年机体血液循环中的 EPCs 对缺血组织趋向能力及分化形成血管的生物学性能, 可以通过移植 EPCs 或通过诱导趋化、促进 EPCs 动员、增生, 使缺血组织局部的 EPCs 数量增多, 从而促进成体的血

管生成,这种治疗称为“治疗性血管发生”^[14]。近年来 EPCs 移植在心血管疾病中的应用主要为缺血心肌的促血管新生治疗研究,以及损伤血管、人工血管和带膜支架的内皮化研究等。Zan 等^[15]的研究表明 EPCs 可发挥其治疗性血管新生作用,增强兔预制皮瓣的血管生成,进而促进皮瓣存活。Li 等^[16]的实验表明缺氧条件下血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor,VEGF)大量上调,从而大量募集 EPCs 并诱导血管新生。Hu 等^[17]将 EPCs 移植入心肌梗后大鼠心肌,可增加心肌微血管形成,减少心肌纤维化,心脏超声证实心功能得到改善。故而,EPCs 移植可显著改善缺血部位的血流量,增加毛细血管密度,促进功能的恢复^[18]。Shirota 等^[19]的研究发现,在模拟条件下,EPCs 可以良好的增殖并覆盖支架和周围血管腔,实现再内皮化。George 等^[20]比较发生支架内再狭窄和未发生支架内再狭窄患者的外周 EPCs 数量和功能发现,两组 EPCs 数量相似,但 EPCs 的黏附功能在发生再狭窄组显著低于未发生再狭窄组,并且,与发生局部支架内再狭窄者比较,弥漫性支架内再狭窄者的 EPCs 数量显著降低。

尽管 EPCs 移植治疗心血管疾病的研究已取得了一定的成效,但其临床应用仍受到限制:如(1)外周血细胞数量不足,体外扩增数量有限,无法获得足够数量的 EPCs,使临床应用受到局限^[21]。(2)鉴定和纯化技术尚不成熟,因此提高 EPCs 纯度成为目前亟需解决的问题。(3)移植的最佳途径和移植量尚未明确,探索如何在体外调控 EPCs 的增殖能力、功能和生存时间,使其移植体内后能充分发挥治疗作用,已成为 EPCs 移植治疗心血管疾病的关键。故而,有学者认为,基因修饰的 EPCs 可通过改变细胞表型而增加细胞治疗性血管新生及内皮修复的效率,这一观点近年成为研究特点。

2 基因修饰的 EPCs 在心血管疾病中的应用

由于 EPCs 具有较强的自我更新能力、较高的增殖潜能及缺血区定向归巢等特性,同时,EPCs 是最接近于血流的一层细胞,释放出的生物活性物质很容易通过血流扩散到全身发挥广泛的作用,因此 EPCs 是基因治疗理想的导向载体。从脐带血或自身骨髓、外周血中分离 EPCs,体外扩增后转染相关功能基因再向体内输注,则可同时进行定向基因治疗和细胞治疗,这将成为理想的血管内皮再生疗法。在基因与细胞联合治疗中,细胞不仅作为外源基因的载体和表达场所,同时自身也发挥治疗作用。

2.1 EPCs 在基因治疗中的优势

2.1.1 细胞较稳定, 利用率高 将目的基因稳定整合于细胞染色体或是随细胞分裂以质粒等形式存在即所谓基因治疗, 需要较稳定细胞以获得治疗基因的长期表达。既往实验表明, VEGF、端粒酶逆转录酶等基因转染 EPCs 后可增强其增殖、迁移以及生存能力, 少量目的基因即可使其移植体内后能够充分发挥作用。EPCs 是基因治疗合适的靶细胞, 还体现在其具有相对高的增殖潜能。VEGF 基因转染后 EPCs 的增殖性较单纯移植的 EPCs 高 2 倍, 对血管内皮黏附性同样显著增高^[22]。冠心病患者外周血 EPCs 数量下降, 活性受损, 自体 EPCs 移植可能效果欠佳, 并且在体外扩增 EPCs 数量亦受到限制, 因此采用基因工程的方法将可能弥补该不足。

2.1.2 取材方便, 靶向性好 EPCs 可通过骨髓、外周血和脐血获得, 目前在体外扩增方法已经成熟, 并且成本相对较低, 纯度可满足需求。EPCs 可趋化于损伤组织, 其接近损伤部位血流, 释出蛋白质也很容易通过血流扩散到全身。

2.1.3 免疫排斥少 EPCs 能够通过自体来源避免免疫排斥, 目前为止, 尚未见 EPCs 移植后自身反应性淋巴细胞增殖等免疫排斥反应, 可作为理想的基因导向载体进入体内。此外, 基因体外转染细胞, 避免了将病毒暴露给移植治疗对象的免疫系统, 理论上可以减少免疫毒性。为此, EPCs 在实验性基因治疗中已逐渐受到人们的关注。

2.2 EPCs 的基因治疗在心血管疾病中的应用

2.2.1 血管损伤性疾病的治疗

内皮损伤和功能失调是发生动脉粥样硬化的最初事件, 同时也是血管成形术、支架术后再狭窄的一个重要的病理生理步骤。逆转失调的内皮功能已成为多种血管损伤性疾病防治的新的研究方向。研究证明, EPCs 的移植或动员可以促进血管损伤后的再内皮化, 抑制血管壁的炎性反应^[23]。因此用自体 EPCs 移植来修复损伤血管及对血管或支架做生物工程学上的处理是血管治疗的一个新兴领域, 尤其是基因修饰的 EPCs 将会发挥更大的作用。

内皮型一氧化氮合酶(eNOS)基因产物对血管壁产生多效的细胞保护作用, 可减少氧化应激, 调节血管张力, 抑制血栓形成和平滑肌细胞的增殖迁移, 阻止动脉粥样硬化的发生。Kong 等^[24]在自体 EPCs 成功移植治疗颈动脉球囊损伤兔的

实验基础上,将携带 eNOS 基因的 EPCs 再移植到该动物模型中,促进了损伤内膜的迅速重建,显著抑制了新生内膜的异常增生并减少了血栓的发生,新生内膜(新生内膜/血管中膜)抑制率达 72.1%。He 等^[25]也发现 eNOS 基因修饰的 EPCs 促进球囊损伤后血管再内皮化的能力比未转染的 EPCs 显著增强。

VEGF 基因转染 EPCs 是目前受到较多关注的一个方向。Xu 等^[26]将转染 VEGF165 基因的自体骨髓单个核细胞注射于急性心肌梗死兔的心肌内,结果显示,VEGF165 转染组的心脏功能较单纯 EPCs 移植组有更显著的提高,且梗死部位中移植细胞分化成心肌细胞和内皮细胞也显著多于单纯 EPCs 移植组。最近国内也有研究者将 VEGF、aFGF 等基因修饰的 EPCs 应用于治疗性血管新生的研究。Meng 等^[27]将腺病毒介导的 VEGF165 转染的 EPCs 进行移植可提高其移植存活率和增加静脉血栓再通率。另一实验表明同时将人 VEGF165 和 Ang-1 基因转入 EPCs 中,转染后的 EPCs 具有更强的促血管再生能力^[28]。以上研究均说明同时进行基因治疗和细胞移植治疗,可更有效地促进血管新生,改善缺血器官血流和功能。

2.2 缺血性疾病的治疗

Iwaguro^[29]等将 VEGF 经腺病毒载体转导入 EPCs 并注入裸鼠缺血后肢,新血管形成和血流恢复均显著提高,与对照组相比,肢体坏死率和自主截断率下降 63.7%。Murasawa 等^[30]利用端粒酶和逆转录酶转染了外周血 EPCs 移植后肢缺血的裸鼠体内,后肢存活率提高,后肢血流灌注量和毛细血管密度与 GFP 转染的对照组相比也均显著提高。Choi^[31]将无活性的 GSK3 β 基因转染 EPCs 并移植缺血后肢裸鼠,与单纯 EPC 移植组比较,发现实验组后肢存活率更高,血流量恢复更显著。这些实验的成功为今后替 EPCs 选择目的基因指明方向,即可能从提高端粒酶活性和改变细胞内信号转导途径着手选择基因。

3. 讨论与展望

利用基因转染技术将 ang-1 基因转入 EPCs,增强了其增殖或新生血管的能力,比单用 EPCs 移植更为有效,可扩大 EPCs 临床上应用范围,但也存在一些待解决问题:

EPCs 的增殖能力仍有限,很难在体外培养扩增的同时防止细胞衰老和表型改变。想要取得更好的疗效,就要获得更多数量的 EPCs,这需要在技术上进一

步改进,如采用更有效的 EPCs 扩增方法。对一些骨髓受损而无法进行自体细胞移植的病人,可研究采用脐血分离或其他组织干细胞分化而成的 EPCs 的治疗方式。

需阐明 EPCs 的表面标记 以其能将 EPCs 与成熟内皮等其他细胞鉴别,以期获得更高质量的 EPCs。因此,如何优化 EPCs 的提纯技术,也是目前尚需进一步解决的课题。

需要解决基因治疗的靶向性、转染效率、持续表达、表达调控等问题。尽管数周时间已经足够形成血管,但不能确定体内缺乏血管生成因子时,形成的血管是否稳定,血流动力学情况尚未确定。很多未缺血区域也出现了新生血管。因此,明确相关信号通路、提高基因转染的效率、探索更有效的基因输送方法将是下一步研究重点。

明确治疗性血管发生是否有促使潜在肿瘤的生长和血管瘤的出现等潜在危害。因此,还需优化实验,探索一个长期高效的安全剂量,并明确评价血管再生的金标准,以便进一步评估和提高治疗的安全性。

4. 本论文主要研究内容和研究意义

心血管疾病严重影响着人们的生活质量甚至危及生命。许多研究表明,心血管疾病进程中,血管壁内皮细胞首先受累。EPCs 在一定条件下能被动员并归巢至损伤部位,分化为内皮细胞参与损伤血管的再内皮化过程,并促进损伤血管周围细胞释放血管生成相关因子的释放。

然而,各种内外源刺激将影响治疗用 EPCs 的数量及功能质量,我们需要寻找有效方法干预细胞炎症,充分发挥 EPCs 修复血管损伤能力。本文的主要内容是由 TNF- α 诱导 EPCs 炎症,通过主要的炎症反应标志物说明炎症反应对体外培养的 EPCs 的影响;采用荧光定量 PCR 技术,酶联免疫吸附技术等生物技术研究 EPCs 转染 Ang-1 基因后炎症反应标志物表达的改变,进而说明 Ang-1 在修复 EPCs 炎症反应中的作用。

利用基因转染技术将 Ang-1 基因转入 EPCs,抑制细胞移植后受到的炎症损伤,以发挥其增殖或新生血管的能力,将比单用 EPCs 移植更为有效,可提高 EPCs 在临床上的治疗效率。利用基因工程的手段,修复炎症状态下的 EPCs,提高循环中 EPCs 质量,促进缺血组织的新生血管和侧支循环的形成,也许代表一种新

的防治缺血性心血管事件的手段。

参考文献

- [1] Caprioli A, Jaffredo T, Gautier R, et al. Blood-borne seeding by hematopoietic and endothelial precursors from the allantois[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998;17;95(4):1641-6.
- [2] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. Science. 1997;275(5302):964-7.
- [3] Shi Q, Rafii S, Wu MH, et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells[J]. Blood. 1998;92(2):362-7.
- [4] Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization[J]. Circ Res. 1999;85(3):221-8.
- [5] Devanesan AJ, Laughlan KA, Girn HR, et al. Endothelial progenitor cells as a therapeutic option in peripheral arterial disease[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2009;38(4):475-81.
- [6] Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization[J]. Nat Med. 1999;5(4):434-8.
- [7] Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors[J]. Blood. 2000;95(3):952-8.
- [8] Matsumoto K, Yasui K, Yamashita N, et al. In vitro proliferation potential of AC133 positive cells in peripheral blood[J]. Stem Cells. 2000;18(3):196-203.
- [9] Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures[J]. Circulation. 2002;106(22):2781-6.
- [10] Rehman J, Li J, Orschell CM, et al. Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors.

Circulation. 2003 107(8):1164-9.

[11]Friedrich EB, Walenta K, Scharlau J, et al. CD34-/CD133+/VEGFR-2+ endothelial progenitor cell subpopulation with potent vasoregenerative capacities [J]. Circ Res. 2006;98(3):e20-5.

[12]Griese DP, Ehsan A, Melo LG, et al. Isolation and transplantation of autologous circulating endothelial cells into denuded vessels and prosthetic grafts: implications for cell-based vascular therapy [J]. Circulation. 2003;108(21):2710-5.

[13]Allegra A, Coppolino G, Bolignano D, et al. Endothelial progenitor cells: pathogenetic role and therapeutic perspectives[J]. J Nephrol. 2009;22(4):463-75.

[14]Hung HS, Shyu WC, Tsai CH, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells as therapeutics for cardiovascular diseases[J].Cell Transplant. 2009;18(9):1003-12.

[15]Zan T, Li Q, Dong J, Zheng S, et al. Transplanted endothelial progenitor cells increase neo-vascularisation of rat pre-fabricated flaps[J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010;63(3):474-81.

[16]Li B, Sharpe EE, Maupin AB, et al. VEGF and PlGF promote adult vasculogenesis by enhancing EPC recruitment and vessel formation at the site of tumor neovascularization[J]. FASEB J. 2006;20(9):1495-7.

[17]Hu CH, Li ZM, Du ZM, et al. Expanded Human Cord Blood-derived Endothelial Progenitor Cells Salvage Infarcted Myocardium in Rat with Acute Myocardial Infarction[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2009;37 (5-6): 551-556.

[18]Hristov M, Zernecke A, Liehn EA, et al. Regulation of endothelial progenitor cell homing after arterial injury[J]. Thromb Haemost. 2007;98(2):274-7.

[19] Shirota T, Yasui H, Matsuda T et al. Intraluminal tissue-engineered therapeutic stent using endothelial progenitor cell-inoculated hybrid tissue and in vitro performance. Tissue Eng. 2003 9:473-85.

[20]George J, Herz I, Goldstein E, et al. Number and adhesive properties of circulating endothelial progenitor cells in patients with in-stent restenosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003;23(12):e57-60.

[21] Kalka C, Masuda H, Takahashi T, et al. Transplantation of ex vivo expanded

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库